



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده بهداشت

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی

عنوان

بررسی آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سنتی عرضه شده در

سطح شهر قزوین طی فصول سرد و گرم ۱۳۹۶-۱۳۹۷

استاد راهنما

دکتر پیمان قجر بیگی

استاد مشاور

دکتر رزاق محمودی

سعید شهنساری

نگارش

هاجر خدمتی مرصع

تابستان ماه - ۱۳۹۸

چکیده

زمینه و هدف: لیستریا مونوسیتوژنز یک میکروارگانیسم ناشی از مواد غذایی و یک تهدید جدی برای سلامت عمومی می‌باشد. لیستریا باکتری گرم مثبت و درون سلولی اختیاریست که از طریق غذا انتقال می‌یابد. لیستریا مونوسیتوژنز، توانایی ایجاد بیماری‌های شدید و مهاجم در انسان و در بیش از ۴۰ گونه از حیوانات را دارد. لیستریوزیس یکی از مهمترین بیماری‌های عفونی در اروپا و آمریکا محسوب می‌شود. مصرف شیر خام و محصولات لبنی سنتی مانند پنیرهای سنتی می‌تواند یکی از دلایل عمده لیستریوزیس در افراد باشد. در فرآیند تولید شیر و فرآورده‌های لبنی، معمولاً آلودگی پس از پاستوریزاسیون اتفاق می‌افتد. لیستریا مونوسیتوژنز توانایی تکثیر و رشد در دمای پایین (۴ درجه سانتی‌گراد) و زنده ماندن حتی در دمای انجماد را دارد و به همین دلیل اگر در شیر، پنیر، بستنی و سایر محصولات لبنی یافت شود، سلامتی مصرف کنندگان در خطر قرار می‌گیرد. لذا این مطالعه با هدف تعیین آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سنتی عرضه شده در شهر قزوین با استفاده از روش کشت و تأیید نهایی با روش PCR انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تو صیفی تحلیلی، ۱۲۸ نمونه از پنیرهای سنتی عرضه شده، از پاییز ۱۳۹۶ تا تابستان ۱۳۹۷، بطور تصادفی از سطح شهر قزوین، جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها، تحت شرایط بهداشتی به آزمایشگاه انتقال داده شده و مورد بررسی قرار گرفتند. علاوه بر آزمایشات مبتنی بر محیط کشت، (غنی سازی، پالکام آگار) نمونه‌های مثبت جهت تأیید نهایی به وسیله روش مولکولی PCR، جهت شناسایی پاتوژن مذکور مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی حضور لیستریا مونوسیتوژنز، ژن *prfA* طراحی و تکثیر گردید. نتایج بر اساس آزمون آماری کای دو و آزمون دقیق فیشر، برای بررسی رابطه بین متغیرها آنالیز شد و اختلاف آماری در سطح ($p < 0.05$) معنی‌دار فرض گردید.

نتایج: طبق نتایج به دست آمده ۱۴ نمونه (۱۰/۹ درصد) از پنیرهای سنتی از نظر آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز مثبت گزارش شدند. که بیشترین آلودگی در پنیرهای سفید (۷ درصد) و کمترین آلودگی در پنیر کوزه‌ای گاوی (۰/۸ درصد) و کوزه‌ای گوسفندی (۰/۸ درصد) دیده شد. همچنین بیشترین آلودگی در فصل تابستان و زمستان (۳/۱ درصد) گزارش گردید. کمترین آلودگی مربوط به فصل بهار و تابستان بود. نتایج آزمون فیشر نشان دهنده این بود که رابطه معناداری بین آلودگی و نوع پنیر، آلودگی و فصل وجود ندارد. نتایج PCR نشان می‌دهد که هر ۱۴ نمونه مثبت در روش کشت، آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز است.

بحث و نتیجه‌گیری: آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به باکتری‌های بیماری‌زا مانند لیستریا تهدیدی برای مصرف‌کنندگان این نوع محصولات به شمار می‌رود. به منظور جلوگیری از آلودگی محصول به این باکتری، تولیدکنندگان باید اقدامات پیشگیری را انجام دهند و توجه ویژه باید به نقاط مهم در فرآیند تولید و بهداشت کافی داشته باشند. حضور لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای سنتی در این مطالعه به اثبات رسیده است. که بر اساس این نتایج افرادی که از پنیرهای سنتی استفاده می‌کنند در معرض خطر بالقوه قرار دارند. بنابراین متصدیان امور ایمنی مواد غذایی ایران باید استاندارد موثری را برای حضور لیستریا در مواد غذایی ایجاد کنند.

کلمات کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، پنیرهای سنتی، قزوین، PCR

Abstract

Background and purpose: *Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen and a serious threat to the public health. *Listeria* is a gram-positive bacterium and a facultative food-borne intracellular Pathogen. *Listeria monocytogenes* has potentiality to cause serious invasive disease in humans and in more than 40 animal species. Listeriosis is one of the most important infections in Europe and the United States. Consumption of Raw milk and traditional dairy products such as traditional cheeses can be a major reason for listeriosis in humans. In the process of production of milk and dairy products, it most commonly occurs as consequence of post-pasteurization contamination. *L.monocytogenes* has the ability to multiply and grow at low temperatures (4C) and to survive even on freezing temperatures, and as such poses risk for health of consumers, if found in milk, cheese, ice-cream and other dairy products. Therefore, this study aimed to Investigation of *Listeria monocytogenes* Contamination in traditional cheese produced using culture and final confirmation with PCR (Polymerase Chain Reaction) technique in Qazvin \city.

Material and Methods: In this descriptive and analytical study, From october 2017 to september 2018, a total of 128 samples of traditional cheese were collected randomly from different places in Qazvin. After collecting the samples, they were transported to the laboratory. All isolates were subjected to biochemical test (Palcam Agar). *L. monocytogenes* strains were further confirmed by PCR amplification. In this study, *prfA* gene was amplified by PCR. Data were analyzed using Chi-square test and Fisher's exact test. Statistical difference was considered significant ($p < 0.05$).

Results: The results indicated that 10.9% (14 samples) of traditional chesses were contaminated by *Listeria monocytogenes*. The highest prevalence of *L.monocytogenes* was found in White cheese samples (7%). The least contamination was observed in cow Koozeh cheeses (0.8%) and sheep Koozeh cheeses (0.8%). The highest contamination was reported in spring and winter (3.1 %). The lowest pollution was in spring and summer. Fisher test results indicated that there was no significant relationship between infection and type of cheese, infection and season. The *L.monocytogenes* isolates(14 sample) were positive for the presence of *prfA* gene

Conclusion: Contamination of milk and its products with pathogenic organisms such as *Listeria* could be considered as a health threat for the consumers. In order to prevent the contamination of product with this bacterium, producers much implement prevention measures, and special attention must be focused on critical points in the production process and adequate sanitation. *Listeria monocytogenes* was isolated from traditional cheeses in this study. Our results indicate the potential risk of infection with *Listeria monocytogenes* among people who consume traditional cheeses. So Iran's Food Safety Authority should urgently set up an effective standard to screen all susceptible food products for presence of *Listeria*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Traditional cheese, Qazvin , PCR



Qazvin University of Medical Sciences
Faculty of Health

A Thesis
Presented for the degree Of Master of Sciences (M.Sc) in
Food Safety and Health

Title
Investigation of Contamination of Listeria
monocytogenes in traditional cheese produced in
Qazvin in 2017-2018

Supervisor:
Peyman qajarbeygi (Ph.D)

Advisor:
Razagh Mahmodi (Ph.D)
Saeed Shahsavari

By:
Hajar khedmati morassa

September-2019